استجابة نباتات القطن للتلقيح البكتيري *Pseudomonas fluorescens*

علي إبراهيم حمادي صبا باقر عبد الجبوري إياد عبد الواحد الهيتي
قسم وقاية النبات /كلية الزراعة — جامعة بغداد

المستخلص

تم الكشف عن استجابة فسيولوجية وبايوكيميائية ومظهرية لنباتات القطن الملقحة بالبكتيريا *P. fluorescens* اختلفت معنويا عن النباتات غير الملقحة .فقد وجد ان تلقيح نباتات القطن بالبكتيريا قد عمل على تحفيز النبات على إنتاج الفايتوالكسين وزيادة في محتوى الأوراق من البروتين . أما من الناحية المظهرية فقد وجد ان المعاملة بالبكتيريا أدى إلى زيادة معنوية في كل من الوزن الرطب والجاف للمجموع الجذري والخضري ناتجة عن زيادة معنوية في عدد الأوراق وعدد تفرعات الجذر ، وقد انعكس ذلك على زيادة معنوية في معدل عدد الجوز للنبات الواحد ووزن الجوزة فكانت 9.4 جوزة / نبات في معاملة اللقاح البكتيري وبمعدل وزن 4.7 غم /جوزة مقارنة بـ 6.1 جوزة /نبات و 3.7 غم /جوزة في نباتات المقارنة وزيادة معنوية في وزن زهر القطن حيث بلغ الحاصل 225.6 غم / م^2 في معاملة اللقاح البكتيري و 130.1 غم /م^2 في معاملة المقارنة

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences, 36(3) : 63 -- 68, 2005 Hammadi *et al.*

Response of Cotton plant to bacterial Inoculation (*Pseudomonas fluorescens*)

A. I. Hammadi S. B. Al. Juboory Ayad A. Al-Heeti
Plant Protection Department –Agriculture College – University of Baghdad

ABSTRACT

This study was showed that cotton plant bacterized with *Pseudomonans fluorscens* were significantly induced physiological biochemical and morphological response compared to the control . Firstly phytoalexin compound (s) was only induced in the bacterized plant as spectrophotometric determined.
Secondly the bacterized plants had higher total protein content over that of non bacterized. In addition, morphologically the bacterized plants were found to have higher leaf number and wet and dry weight of both foliage and roots system.
It's a consequence of such response , the bacterized plants gave significantly higher boll number (9.4 boll/plant) and boll weight (7.4 g/boll) over that of non bacterized (6.1 boll) plant and (3.7g/boll) Hence the total cotton yield of baterized plant was significantly higher (225.6 g/m^2) than that of the control (130.1 g/m^2).

المقدمة

تحوي التربة عددا كبيرا من الأحياء الدقيقة تؤثر وتتأثر ببعضها بأنواع مختلفة من العلاقات ومن الملفت للنظر نشاط مثل هذه التداخلات بين الأحياء على سطوح جذور النباتات Rhizoplane والمنطقة المتأثرة بها Rhizosphere تأثرا بافرازات الجذور . وقد وجد لهذه التداخلات اثر في استيطان مسببات الأمراض (10 و 17).

*تاريخ استلام البحث 2002/4/7 ، تاريخ قبول البحث 2005/5/15
البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني .

(*)Part of M.Sc. thesis for the second author.

لذا جرت محاولات ناجحة لتنشيط مجاميع من الأحياء الدقيقة في منطقة الجذور لمقاومة مسببات إمراض النبات . وقد حضيت أنواع البكتيريا *P. putida* , *Pseudomonas flourescens* بفعالية لمقاومة مسببات الأمراض النباتية فضلا عن الكشف بفاعلية هذين النوعين في زيادة معنوية في نمو وإنتاجية عدد من المحاصيل الزراعية ، حيث فسرت زيادة نمو وإنتاجية النباتات المعاملة بعدة آليات منها المقاومة للمسببات المرضية أو إنتاج مركبات معقدة تقلل من جاهزية الحديد، اوتحفيز المقاومة الجهازية وتأثيراتها الهرمونية المحفزة لنمو النبات (16) حيث وجد Burr واخرون (7) إن المعاملة بهذه البكتيريا قد أدى إلى زيادة في النمو الخضري للبطاطا بنسبة 500% في البيت الزجاجي وزيادة الحاصل في الحقل بنسبة 17% .وفي دراسة أخرى وجد إن البكتيريا قد سببت زيادة حاصل البطاطا بنسبة 33% في الحقل .

وجد Schroth و Hancock (17) إن البكتيريا *P. fluorescens* سببت زيادة في الحاصل البنجر السكري بمقدار 7.9 طن / أيكر وأشار Gamliel و Katan (10) إن عددا من السلالات التابعة لبكتيريا *P. fluorescens* سببت زيادة في نمو نباتات الطماطة في الترب غير المعقمة بنسبة 65-80 % من الوزن الجاف للنباتات في حين كانت غير مؤثرة في الترب المعقمة . وفي العراق وجد السهيتي واخرون (3) إن معاملة الرز (صنف عنبر 33) بالبكتيريا في الحقل وبطريقتي إضافة اللقاح إلى الحبوب والى التربة قبل الزراعة قد اظهر تأثيرا معنويا في محصول الرز تمثل بزيادة في طول النبات وعدد التفرعات وطول النورة وعدد الحبوب لكل نورة والوزن الجاف للجذور وقد انعكس ذلك على زيادة معنوية في الحاصل مقارنة بعاملة السيطرة حيث كانت الزيادة 75% و50% للموسم 1990- 1991 ، 78% و 52% للموسم 1991-1992 لمعاملة إضافة اللقاح إلى الحبوب والى التربة على التوالي .

وفي دراسة أخرى وجد إن إضافة البكتيريا *P. fluorescens* إلى نباتات فستق الحقل في مرحلتي البادرة والتزهير قد سبب زيادة معنوية في معدل الوزن الجاف للنباتات 460 غم / نبات ومعدل وزن الحاصل 333 غم /نبات مقارنة بعاملة المقارنة التي بلغت بها معدل وزن النباتات 2289 غم ومعدل وزن الحاصل 181.6 غم / نبات لذلك استخدمت الدراسة الحالية لتقويم تأثير المعاملة بالـ *P. fluorescens* في نباتات القطن أولا كعامل محفز للمقاومة ضد مرض الخناق وثانيا التعرف على تأثير التلقيح بهذه البكتيريا في بعض الصفات المظهرية والإنتاجية للنبات .

المواد وطرائق العمل

1- حث نباتات القطن لتكوين مركبات الفايتوالكسين .

أخذت 100 بذرة قطن كوكر 310 وتم تعريضها للهب النار ولمدة نصف دقيقة لإزالة الزغب (4) وبعدها نقعت في الماء لمدة 24 ساعة ثم زرعت في عشر أصص فخارية قطر 25 سم وعمق 30 سم حاوية على تربة مزيجية معقمة بالبزمايد المحبب (30غم/م^3) .زرعت البذور بواقع عشرة بذور لكل أصيص وسقيت ،وبعد مرور أسبوعين عوملت نباتات خمسة أصص باللقاح البكتيري *P. fluorescens* 4 ×10^7 وحدة تكوين مستعمرة / مل رشا على الأوراق بواسطة مرشة يدوية لحد البلل مع إضافة 100 مل / أصيص من المعلق البكتيري إلى التربة وتركت الأصص الخمسة الأخرى في أكياس نايلون لكل معاملة لأغراض التحليل والكشف حسب طريقة Keen و Kennedy (12)باستعمال جهاز المطياف الضوئي LKB Bochrom Ultraspac Model 4050 وعلى الطول الموجي (285) نانوميتر .

2- المحتوى ألبروتيني في النباتات المعاملة .

جمعت أوراق من نباتات القطن من الحقل بعد خمسة أشهر من الزراعة للنباتات المعاملة بالـ *P. fluorescens* للمعالجة ج والنباتات غير المعاملة للمعاملة أ ، جففت الأوراق بنشرها في المختبر وسحقت بواسطة مجرشة من نوع Milly Mill Standard Model No.3 Arther co. ثم وضع المسحوق لكل معاملة في كيس (نايلون) وحفظ للتحليل .

تم وزن0.2 غم من مسحوق الأوراق لكلا المتعاملتين وبواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة ثم هضمت العينات بالطريقة الرطبة وباستخدام حامض الكبريتيك وحامض البيروكلوريك وحسب الطريقة المتبعة من قبل Cresser و Parsons (9) ومن ثم قدرت فيها النسبة المئوية للنتروجين الكلي(8) .

ومن حاصل ضرب النسبة المئوية للنتروجين في معاملة التحول (6.25) ، تم حساب النسبة المئوية للبروتين في الأوراق (15).

3- بعض معايير النمو الإنتاجية

نفذت تجربة حقلية بكلية الزراعة – أبي غريب على صنف كوكر 310 وفق تصميم القطاعات التامة التعشية (RCBD) وبثلاث مكررات للمعاملات :

أ.بذور غير معاملة (للمقارنة) .

ب.بذور معاملة بالبكتيريا *P. fluorescens* (4 ×10[7] وحدة تكوين مستعمرة / مل) بالنقع .

تم زراعة البذور بعد المعاملة في جور المسافة بين جوزة وأخرى 25 سم وبواقع 5 بذور /جوزة وعلى مروز وبمعدل 5 جوز/مروز ،طول المرز 150 سم والمسافة بين مرز وأخر 80 سم وبمعدل 4 مرز /معاملة (4) .

أضيف اللقاح البكتيري *P. fluorescens* (4 ×10[7] وحدة تكوين مستعمرة /مل) وبواقع 100 مل /نبات للمعامل (20) رشاً على التربة المحيطة بقاعدة النبات . وفي مرحلتي البادرة وعند التزهير تم أجراء عملية الخف بعد مرور ثلاثة أسابيع من الزراعة بعد ترك نباتين لكل جوزة وأجريت عمليات التسميد والري حسب التوصيات وزارة الزراعة والري (5) .

قلعت خمس نباتات بصورة عشوائية وللمعاملين وذلك لدراسة بعض الصفات والتي تضمنت مايلي :

1.طول النبات وطول الجذر .
2.عدد تفرعات الجذور .
3.عدد الأوراق .
4.الوزن الرطب للمجموع الخضري والجذري .
5.الوزن الجاف للمجموع الخضري والجذري بوضع كل من المجموع الخضري والجذري وبعد فصلهما داخل أكياس ورقية وجففت بواسطة الفرن الكهربائي بدرجة 70 ولمدة 48 ساعة وبعدها تم حساب الوزن الجاف .

عند النضج جني حاصل القطن من المرزين الوسطية لكل معاملة مع استبعاد المرزين الطرفين ونباتات الجور الطرفية كما تم جني الحاصل مرة أخرى بعد مرور شهر على الجنية الأولى وقد تم اخذ البيانات التالية لكل جنية بالإضافة إلى مجموع وزن الجنتين وهي :

1.عدد الجوز المتفتح لكل نبات . تم حسابه من مجموع الجوزات السليمة والمتفتحة كمعدل لعشرة نباتات .
2.وزن الجوزة /معدل لعشرة نباتات .
3.حاصل القطن الزهر . تم حساب حاصل القطن الزهر بعد الجنية الأولى والثانية بالإضافة إلى حساب مجموع حاصل الجنيتين على أساس المتر المربع .

حللت النتائج احصائياً وتمت مقارنة متوسطات المعاملات بحسب اختبار دنكن المتعدد الحدود عند مستوى احتمال 5 % (2) .

النتائج والمناقشة

بينت النتائج اختلافات واضحة في محتوى مستخلص أوراق بين النباتات المعاملة بالبكتيريا *P. fluorescens* وغير المعاملة من محتواها من المركبات الفايتوالكسين كما أظهرتها تقديرات المطياف الضوئي حيث كانت 1.678 في أوراق النباتات المعاملة و 1.397 للأوراق غير المعاملة باللقاح البكتيري وهذا يؤكد نتائج دراسات سابقة خلصت إلى إن التلقيح بأنواع الـ Pseudomonas يعمل على تحفيز النباتات المعاملة بها لتكوين مركبات الفايتوالكسين (12و13) والتي قد تعود لها المقاومة الجهازية المستحدثة (Induce Systemic Resistance) (14) . فضلا عن وجود اختلافات في النسبة المئوية للبروتين في مستخلص النباتات الملقحة بالبكتيريا وغير الملقحة حيث كانت 16.56 % في النباتات المعاملة 12.31 % في النباتات غير المعاملة ، وقد يعود السبب إلى إن إضافة اللقاح البكتيري إلى النباتات قد حفز النباتات على امتصاص أعلى للمركبات النايتروجين وهذا ما أكدته بحوث ودراسات سابقة كون بعض أنواع الجنس Pseudomonas تتبع مجموعة (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (PGPR) مما سببت زيادة في محتوى النتروجين في النبات والذي يعد تأثيرا مباشرا لهذه المجموعة بشكل عام (6 و 11) .

فضلا عن ذلك أوضحت نتائج الاختبار الحقلي وجود تأثير معنويا للقاح البكتيري في جميع صفات المجموع الخضري والجذري لنباتات القطن التي تم دراستها ، حيث تفوقت معاملة اللقاح البكتيري من حيث معدل عدد تفرعات الجذر (12.4) وطول الجذر (25.20) والوزن الرطب (29.96) والوزن الجاف (6.31) المجموع الجذري على معاملة السيطرة والتي بلغت 11.4 و 20.93 و 15.47 و 4.23 على التوالي (جدول 1) .

وعند مقارنة تأثير اللقاح البكتيري على صفة معدل عدد أوراق وطول النبات والوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري للنبات الواحد بمعاملة المقارنة وجد كذلك تفوق معاملة اللقاح البكتيري بزيادة بلغت 136.86 و 87.70 و 328.86 و 64.97 مقارنة بـ 96.40 و 69.25 و 131.64 و 39.17 على التوالي .

كما وجد إن اللقاح البكتيري تأثيرا على صفات الحاصل المدروسة بفروقات مهمة احصائياً في كل من معدل وزن الجوزة الواحدة (4.7 غم) لحاصل الجينة الأولى على معاملة المقارنة (3.6 غم) في حين لم يكن هناك فرق في معدل وزن الجوزة لحاصل الجينةالثانية وكذلك تفوقت معاملة اللقاح البكتيري في معدل عدد الجوز لكل نبات لحاصل الجينة الأولى (6.4 غم) ومجموع الجينتين (9.5 غم) مقارنة بـ(3.6 غم) و(6.1غم) على التوالي . كما تفوقت معاملة اللقاح البكتيري في معدل حاصل القطن الزهر للمتر المربع الواحد لحاصل مجموع الجينيتين والذي بلغ 225.6 غم / م ^{2} مقارنة بـ 130.1 غم /م^{2} (جدول 3) .

استنادا إلى النتائج أعلاه فأن تلقيح نباتات القطن بـ *P. fluorescens* كان ذو كفاءة في زيادة معدلات صفات المجموع الخضري والجذري وصفات الحاصل المختلفة لنباتات القطن المزروعة تحت ظروف الحقل وقد يرجع سبب ذلك لان البكتيريا المستخدمة في الحقل تعود لأحدى مجاميع البكتيريا المحفزة للنمو (PGPR) (16) . وقد انعكست زيادة مواصفات النمو على زيادة معنوية الحاصل وهذه النتيجة تتفق مع عدد من البحوث التي تشير إلى قدرة بكتيريا *P. fluorescens* إلى زيادة معدلات الحاصل ولعديد من المحاصيل الزراعية المهمة (1 ، 3 ، 7 ، 17 ، 18 ، 19) .

جدول 1. : أثر المعاملة بالـ *Pseudomonas fluorescens* على معدلات بعض صفات الجذور لنباتات القطن .

المعاملة	عدد تفرعات الجذور	طول الجذر (سم/نبات)	الوزن الرطب للمجموع الجذري (غم/نبات)	الوزن الجاف للمجموع الجذري (غم/نبات)
المقارنة	11.4 أ	20.93 ب	15.47 ب	4.23 ب
اللقاح البكتيري *P. fluorescens*	12.4 أ	25.20 أ	29.96 أ	6.31 أ

*كل قيمة في الجدول تمثل معدل ثلاث مكررات .

** القيمة المتبوعة بحروف متشابهة بالعمود الواحد لا تختلف معنويا حسب دنكن عند مستوى احتمال 0.05 .

جدول 2. : اثر المعاملة بالـ *Pseudomonas fluorescens* على معدلات بعض صفات الجزء الخضري لنباتات القطن

المعاملة	معدل عدد الأوراق	معدل طول النبات (سم)	معدل الوزن الرطب للمجموع الخضري (غم/نبات)	معدل الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم/نبات)
المقارنة	96.40 ب	69.25 ب	131.64 ب	39.17 ب
اللقاح البكتيري *P. fluorescens*	136.86 أ	87.70 أ	328.86 أ	64.97 أ

*كل قيمة في الجدول تمثل معدل ثلاث مكررات .

** القيمة المتبوعة بحروف متشابهة بالعمود الواحد لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن عند مستوى احتمال 0.05 .

جدول 3. أثر اللقاح البكتيري *Pseudomonas fluorescens* على معدلات حاصل القطن ومكوناته .

المعاملة	وزن الجوزة (غم)			عدد الجوز/نبات			حاصل القطن الزهر (غم/نبات)		
	ج(1)	ج(2)	المعدل	ج(1)	ج(2)	ج1 + ج2	ج(1)	ج(2)	ج1 + ج2
المقارنة	3.6ب	3.7أ	3.7ب	3.6ب	2.5أ	6.1 ب	77.7أ	52.4أ	130.1ب
اللقاح البكتيري *P. fluorescens*	4.7 ب	4.6 أ	4.7 أ	6.4 أ	3.1 أ	9.5 أ	144.9 أ	80.7 أ	225.6 أ

*ج1 : الجنية الأولى ، ج2 : الجنية الثانية .

**كل قيمة في الجدول تمثل معدل ثلاث مكررات .

*** القيمة المتبوعة بحروف متشابهة بالعامود الواحد لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن عند مستوى احتمال 0.05

المصادر

1- الجميلي ، سامي عبد الرضا علي . 1996 . المقاومة المتكاملة ضد الإصابة بالفطر *Aspergillus's flavus* والتلوث بالسم أفلا توكسين B1 في حاصل فستق الحقل . أطروحة دكتوراه ،كلية الزراعة – جامعة بغداد.

2- الراوي ،خاشع وعبد العزيز محمد خلف الله .1980. تصميم وتحليل التجارب الحقلية . 488 صفحة دار للطباعة والنشر ، جامعة الموصل.

3- إنهيتي، أياد عبد الواحد ، محمد عامر فياض وعلي سالم النالبي. 1996. تطبيق تقنية التلقيح البكتيري بالـ *Pseudomonas fluorescens* على نبات الرز وتأثيرها على القدرة الإنتاجية . مجلة أباء للأبحاث الزراعية.6 (1) : 71-83.

4- عبد علي ،حكمت ومجيد حسن الأنصاري.1980. محاصيل الألياف .237صفحة. دار الكتب للطباعة والنشر ،جامعة الموصل .

5- وزارة الزراعة والري والهيئة العامة للخدمات الزراعية .1992. القطن ،خطوات زراعة وخدمة المحصول ،بغداد .

6- Boddey, R.M.VL –Baldani, II.Baldani and J. Doeerener.1986. Effect of inoculation of Azospirillium spp. on nitrogen accumulation of field grown wheat. Plant and Soil 95:109-121.

7- Burr, J.J, M.N., Schroth and T.Suslow .1978 Increased potato yield by treatment of seed pieces with specific strain of *Pseudomonas fluorescens* and putida. Phytopathology.68:1377-1383.

8- Chapman. H.d. and P.F. Partte. 1961. Method of analysis of soil plants and water. Univ. of Calif. Div. of Agricisci.

9- Cresser, M.S.and G.w. Parsons .1979. Sulphuric perchloric acid digestion of plant material for the determination and nitrogen phosphorous, potassium ,calcium and magnesium Analytica Chemcial Acta, 109:431-436.

10- Gamliel, A. and J.Katan.1993. Supperession of major and minor pathogens by *Pseudomonas fluorescens* in solarized and non solarized soil .Phytopathology 83:68-75

11- Kapulnk, Y.Gafny and Y.Okon .1985. Effect of Azospirillium spp. inoculation of root development and No.3 uptake in water (*Triticum aestivum* cv .Miram) in hydropoinc system. Can.J. Bot. 63:627-631.

12- Keen,N.T. and B.W. Kennedy. 1974. Hydroxyphaseollin and related isoflavanoids in the hypersensitive resistan response of soybeans against *Pseudomonas glycinea*. Physiol. Plant pyathol .4:173-185

13- Keen, N.T. 1978. Phytoalexins efficient extraction from leave a facilitated diffusion technique . Phytopathology.68:1237-1239

14- Leeman.M.,F.M. Denouden, J.A.Vanpelt ,F.P.M Dirkx, H.Steijl, P.A.H.M Bakker and B.Schipper. 1996. Iron availability affect induction of systemic resistance to fusarium wilt of radish By *pseudomonas fluorescens* Phytopathology 86:149-155.

15- Scheffelen, A.C., A. Muller and J.G. Vanschovenbury . 1961. Quick test for soil and plant analysis used small laboratories. Neth. J.Agric. Sci. 9:2-16

16- Scher, F.M., and Baker. 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and axsynthetic iron chelator on induction of suppressiveness to fusarium wilt pathogens. Phytopathology.72:1567-1573.
17- Schroth, M.V. and J.G. Han cock. 1982. Disease suppressive soils and roots colonizing bacteria. Science 216: 1376-1381.
18- Suslow, T.V. 1982.Roieof root colonizing bacteria in plant growth 187-223. in Mount ,M.S. and G.H. Lacy, Ptophyathoiogh. Vol.I.
19- Suslow, T.V. and M.N. Schroth . 1982. Role of deleterious rhizobacteria as miner pathogens in reducing crop growth . Phytopathology. 72:111-115
20- Vanpeer, G.J., R., Niemann, and B. Schippers, 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of fusarium wilt of carnation pseudomonas sp.strain WCS417r. Phytopathology81:728-733.